

Substituição de Metanol por Água na Extração de Antocianinas Totais de Glumas de Sorgo para Uso como Corante Alimentício



Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 109

Substituição de Metanol por Água na Extração de Antocianinas Totais de Glumas de Sorgo para Uso como Corante Alimentício

Valéria Aparecida Vieira Queiroz
Marina Pieroni Alves
Kênia Grasielle de Oliveira
Maria Clara Rocha
Renata Regina Pereira da Conceição
Rafael de Araújo Miguel

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45

Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3027-1100

Fax: (31) 3027-1188

Home page: www.cnpms.embrapa.br

E-mail: cnpms.sac@embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau

Membros: Antonio Claudio da Silva Barros, Dagma Dionísia da Silva, Maria Marta Pastina, Monica Matoso Campanha, Paulo Eduardo de Aquino Ribeiro e Rosângela Lacerda de Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa

Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto(s) da capa: Marina Pieroni Alves

1ª edição

1ª impressão (2014): on line

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Milho e Sorgo

Substituição de metanol por água na extração de antocianinas totais de glumas de sorgo para uso como corante alimentício / Valéria Aparecida Vieira Queiroz... [et al.]. -- Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2014.

18 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 109).

1. *Sorghum bicolor*. 2. Composto bioativo. 3. Alimentação. I. Queiroz, Valéria Aparecida Viera. II. Série.

CDD 633.174 (21. ed.)

Sumário

Resumo	4
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	11
Resultados e Discussão	13
Conclusões	15
Agradecimentos	15
Referências	15

Substituição de Metanol por Água na Extração de Antocianinas Totais de Glumas de Sorgo para Uso como Corante Alimentício

Valéria Aparecida Vieira Queiroz¹

Marina Pieroni Alves²

Kênia Grasielle de Oliveira³

Maria Clara Rocha⁴

Renata Regina Pereira da Conceição⁵

Rafael de Araújo Miguel⁶

Resumo

Apesar de o sorgo ser pouco utilizado na alimentação humana, estudos relatam, cada vez mais, os benefícios associados ao consumo desse cereal, em razão da presença de compostos bioativos, como as antocianinas. Essas se apresentam com elevado potencial antioxidante e de utilização como corantes naturais em produtos alimentícios, entretanto, sua extração em grãos de sorgo é feita, usualmente, com metanol acidificado, que é tóxico. As glumas são partes descartadas dos grãos do sorgo e, dependendo do genótipo, podem conter altas concentrações de antocianinas. Assim, o objetivo

¹Nutricionista, D.Sc. em Produção Vegetal, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, valeria.vieira@embrapa.br

²Bolsista Embrapa Milho e Sorgo/ CNPq - Estudante de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de São João del-Rei- UFSJ/CSL

³Mestranda Embrapa Milho e Sorgo/ Universidade Federal de São João del-Rei/CSL

⁴Estagiária Embrapa Milho e Sorgo - Estudante de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de São João del-Rei- UFSJ/CSL

⁵Mestranda Embrapa Milho e Sorgo/ Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF

⁶Técnico da Embrapa Milho e Sorgo

desse trabalho foi avaliar o efeito do pH e da temperatura na substituição do metanol por água, na extração de antocianinas totais de glumas de sorgo para uso como corante alimentício. Utilizaram-se sete soluções extratoras: água a 25 °C sem adição de ácido cítrico (T1), com adição de ácido cítrico a 1% (T2), com adição de ácido cítrico a 3% (T3), metanol 1% HCl a 25 °C (T4, controle), água a 90 °C sem adição de ácido cítrico (T5), com adição de ácido cítrico a 1% (T6) e com adição de ácido cítrico a 3% (T7), sob agitação a 200 rpm, por duas horas. Os teores de antocianinas totais foram determinados por método colorimétrico, em espectrofotômetro a 480 nm. As médias das três repetições foram submetidas ao teste de Tukey ($p < 0,05$). Houve diferenças significativas nos teores de antocianinas, os quais variaram entre 0,33 e 7,31 mg Eq. de luteolinidina g⁻¹. As maiores médias foram obtidas nos T4 (controle) e T7, os quais não diferiram entre si. Os resultados indicaram influência do pH e da temperatura na extração de antocianinas totais de glumas de sorgo e que a extração em água 3% ácido cítrico a 90 °C pode substituir o método convencional com metanol 1% HCL, largamente utilizado na extração de antocianinas de sorgo.

Palavras-chave: corantes alimentícios, *Sorghum bicolor* L., ácido cítrico

Replacement of Methanol for Water in the Extraction of Anthocyanins of Sorghum Glumes for Use as Food Coloring

Valéria Aparecida Vieira Queiroz¹

Marina Pieroni Alves²

Kênia Grasielle de Oliveira³

Maria Clara Rocha⁴

Renata Regina Pereira da Conceição⁵

Rafael de Araújo Miguel⁶

Abstract

Although sorghum is little used in food, studies report the benefits associated with consumption of sorghum, due to the presence of bioactive compounds such as anthocyanins. They present a high potential for use as antioxidant and natural colorants in food, however, its extraction in sorghum grains are made usually with acidified methanol, which is toxic. The glumes are discarded parts of grain sorghum and depending on the genotype, can contain high concentrations of anthocyanins. The objective of this study was to evaluate the effect of pH and temperature on replacing methanol for water, in the extraction of anthocyanins sorghum bales for use as food coloring. We used seven-extraction solutions: Water at 25 ° C without addition of citric acid (T1); with addition of citric acid to 1% (T2); with the addition of citric acid 3% (T3); methanol 1% HCl 25 ° C (T4, control); water at 90 ° C without addition of citric acid (T5); with 1% addition of citric acid (T6) and with addition of 3% of citric acid (7), under stirring at 200 rpm for two hours. The anthocyanin content was determined by colorimetric

method, by spectrophotometer at 480 nm. The average of three replicates were submitted to the Tukey test ($p < 0.05$). There were significant differences in anthocyanins, which varied between 0.33 and 7.31 mg eq. Luteolinidina g^{-1} . The highest means were obtained in T4 (control) and T7, which did not differ. The results show the influence of pH and temperature on the extraction of anthocyanins sorghum glumes and extraction in water 3% citric acid at 90 °C can replace the conventional method methanol with 1% HCL, widely used in sorghum anthocyanin extraction.

Keywords: food coloring, *Sorghum bicolor* L., citric acid

Introdução

A relação entre nutrição e saúde tornou-se, em nível mundial, um dos principais alvos da atenção tanto da população quanto de pesquisadores, em busca de alimentos que possam proporcionar longevidade com qualidade de vida. Como resultado, vem crescendo o interesse na identificação de novas fontes alimentares de compostos bioativos e de aditivos naturais visando promoção da saúde humana.

Nesse sentido, o sorgo, embora seja utilizado no Brasil quase que exclusivamente para alimentação animal, vem despertando o interesse também para uso na alimentação humana em decorrência, principalmente, dos elevados teores de fitoquímicos como ácidos fenólicos, flavonoides (antocianinas e taninos), amido resistente, fitoesteróis e policosanóis identificados nos grãos desse cereal. Esses compostos têm efeito na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, como as cardiovasculares, o diabetes, a obesidade e o câncer (DYKES et al., 2009).

Dentre os compostos bioativos do sorgo, nos genótipos de coloração de pericarpo mais escuros, como os pretos, os marrons e os vermelhos, as antocianinas se destacam. Além do pericarpo, em alguns genótipos, as glumas, que são partes descartadas que envolvem os grãos do sorgo, podem conter altas concentrações de antocianinas. As principais são denominadas 3-deoxiantocianidina (3-DXA), que compreendem a luteolinidina e a apigeninidina e seus derivados metoxilados 5-metoxiluteolinidina e 7-metoxiapigeninidina (PALE et al., 1997; AWIKA; ROONEY, 2004; AWIKA et al., 2004; WU; PRIOR, 2005; SEITZ, 2004). Essas antocianinas possuem baixa distribuição na natureza e são assim denominadas por não apresentarem o grupo hidroxila na posição C-3 conforme ilustrado na Figura 1 (CLIFFORD, 2000). Esta característica é exclusiva das antocianinas presentes no sorgo, o que possibilita uma maior estabilidade a variações de pH, em comparação com aquelas comumente encontradas em hortaliças e frutas (MAZZA; BROUILLARD, 1987; AWIKA et al., 2004; DYKES et al., 2009), cujas estruturas químicas são apresentadas na Figura 2.

A cor e a aparência têm um papel-chave na aceitação dos produtos por parte do consumidor, por essa razão, os corantes são uma estratégia bastante utilizada na indústria de alimentos. Embora os corantes sintéticos tenham menores custos de produção, maior estabilidade e capacidade tintorial, tornando-os preferíveis, observa-se que o número desses aditivos permitidos nos países desenvolvidos vem diminuindo a cada ano. Por essa razão, a demanda por pesquisas que visem desenvolver corantes alimentícios a partir de fontes naturais, com intuito de reduzir a dependência do uso de corantes alimentícios sintéticos no processamento de alimentos, está em ampla ascensão (LOPES et al., 2007).

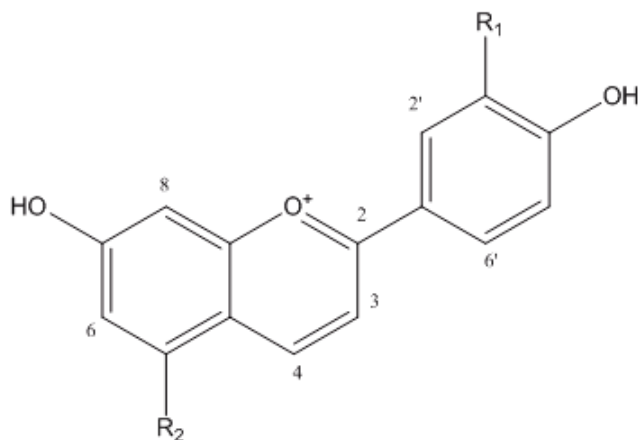


Figura 1. Estrutura química das principais 3-deoxiantocianinas do sorgo: Apigeninidina ($R_1 = H$; $R_2 = OH$); Luteolinidina ($R_1 = OH$; $R_2 = OH$).

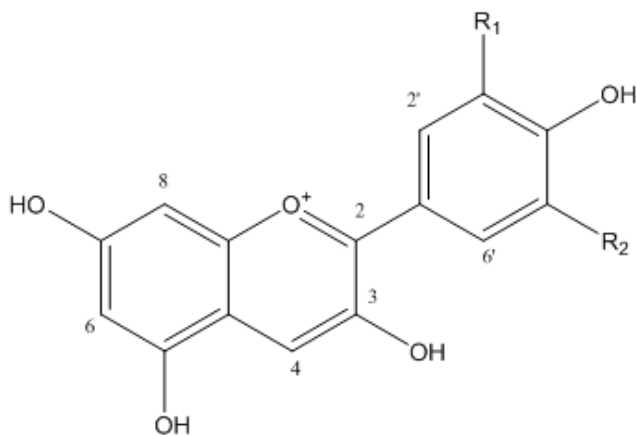


Figura 2. Estrutura química das antocianinas mais comuns encontradas em frutas e vegetais: Pelargonidina ($R_1 = H$; $R_2 = H$); Cianidina ($R_1 = OH$; $R_2 = H$); Delfinidina ($R_1 = OH$; $R_2 = OH$); Peonidina ($R_1 = OCH_3$; $R_2 = H$); Petunidin ($R_1 = OCH_3$; $R_2 = OH$); Malvidina ($R_1 = OCH_3$; $R_2 = OCH_3$).

Corantes naturais são compostos que se encontram em produtos naturais ou pigmentos inorgânicos existentes na natureza. Muitos dos pigmentos naturais utilizados inicialmente com o objetivo de corar os alimentos são fitoquímicos e possuem elevado poder antioxidante. Segundo Bridle e Timberlake (1997), as antocianinas são mundialmente estudadas como agentes de coloração natural em alimentos e compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal, sendo responsáveis pelos tons compreendidos desde a coloração vermelha até a coloração azul em muitas frutas, legumes e hortaliças (MAZZA; MINIATI, 1993). A principal desvantagem das antocianinas frente aos corantes sintéticos deve-se à mudança de coloração decorrente de reações químicas dos produtos alimentícios, pois as antocianinas possuem grupos cromóforos que são bastante sensíveis às alterações de pH do meio, segundo estudo de Fossen et al. (1998).

Entretanto, conforme descrito anteriormente, as antocianinas do sorgo apresentam maior estabilidade a diferenças de pH e de temperatura, em comparação com aquelas comumente encontradas em hortaliças e frutas, o que as torna com grande potencial para uso como corante na indústria de alimentos. Contudo, sua extração em grãos de sorgo é feita, usualmente, com metanol acidificado, o qual é altamente tóxico para ingestão.

Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do pH e da temperatura na substituição do metanol por água, na extração de antocianinas totais de glumas de sorgo, visando utilização como corante na indústria de alimentos.

Material e Métodos

Para a realização deste trabalho foram utilizadas glumas da linhagem de sorgo IS 8827, pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG) mantido na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG. Essa linhagem foi selecionada em razão da alta concentração de gluma de cor preta que apresentou após triagem de 100 acessos de sorgo do BAG. Os grãos de sorgo foram levados para o laboratório de Segurança Alimentar, da Embrapa Milho e Sorgo, onde se procedeu a retirada das glumas manualmente com auxílio de uma pinça. Em seguida, as glumas foram trituradas em moinho marca-IKA modelo A11 basic, com obtenção de uma farinha com granulometria de 0,5 mm.

Extração e Quantificação das Antocianinas Totais

Pesaram-se 0,25 g da farinha obtida das glumas, em balança analítica (OHAUS, modelo AR3130) em triplicata. As amostras foram transferidas para *erlenmeyers* de 250 mL, em que foram adicionados 25 mL das seguintes soluções:

T1: Água deionizada – temperatura de 25 °C

T2: Água com adição de 1% de ácido cítrico – temperatura de 25 °C

T3: Água com adição de 3% de ácido cítrico – temperatura de 25 °C

T4: Metanol - temperatura de 25 °C

T5: Água deionizada – temperatura de 90 °C

T6: Água com adição de 1% de ácido cítrico – temperatura de 90 °C

T7: Água com adição de 3% de ácido cítrico – temperatura de 90 °C

Os frascos com as respectivas soluções foram agitados em mesa agitadora (Nova Ética, modelo 109) por 2 horas a uma

rotação de 200 rpm e, em seguida, o conteúdo de cada frasco foi filtrado em papel de filtro qualitativo.

Para a leitura de absorbância foi utilizado um espectrofotômetro (Modelo UV-Visível 1100 da Hitachi) em comprimento de onda a 480 nm. Os teores de antocianinas totais foram expressos em mg Eq. de luteolinidina.g⁻¹, os quais foram obtidos com a seguinte equação:

$$C \text{ (mg Eq. de luteolinidina g}^{-1}\text{)} = A/\varepsilon \times 103 \times MM \times V \times Fd$$

Onde:

A= absorbância

ε = Coeficiente de extinção molar da luteolinidina (29.157).

MM= massa molar da luteolinidina (270 g.mol⁻¹)

V= Volume da extração em L

Fd= Fator de diluição.

Análise Estatística

Os dados foram analisados por ANOVA com o auxílio do modelo computacional SISVAR (FERREIRA, 2003), e as médias foram submetidas ao teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Conforme se observa na Figura 3, houve diferenças significativas ($p > 0,05$) nos teores de antocianinas totais das glumas extraídas da linhagem de sorgo IS 8827, os quais variaram entre 0,33 e 7,31 mg Eq. de luteolinidina g^{-1} de amostra.

Oliveira et al. (2014) avaliaram os teores de antocianinas totais de 90 acessos de grãos de sorgo provenientes do BAG mantido na Embrapa Milho e Sorgo com extração em metanol acidificado (1% HCl) e observaram grande variabilidade com variação entre 0,04 a 0,86 mg Eq. de luteolinidina g^{-1} . Esses valores foram bem inferiores aos obtidos no presente trabalho, o que comprova a viabilidade da extração de antocianinas das glumas em relação ao grão de sorgo para uso como corantes na indústria de alimentos.

As maiores médias de antocianinas totais (7,31 e 6,89 mg Eq. de luteolinidina g^{-1}) foram obtidas com a extração realizada em metanol 1% HCl e extração com água na temperatura de 90 °C com adição de ácido cítrico a 3%, respectivamente. Esses valores não diferiram entre si, o que comprova que o método à base de metanol, usualmente utilizado nas análises de antocianinas do sorgo, pode ser substituído por método menos tóxico, à base de água, visando utilização das antocianinas das glumas na indústria de alimentos.

Analisando o extrato hidroalcoólico de uvas, Vedana et al. (2008) obtiveram valores de antocianinas totais 4,90 mg de antocianinas 100 g^{-1} de uva, e Silva et al. (2010), em extrato de jabuticaba, encontraram 48,06 mg de antocianinas 100 g^{-1} .

Assim, embora a metodologia para a análise de antocianinas de glumas de sorgo tenha sido diferente da utilizada nas análises das antocianinas das frutas supracitadas, os teores obtidos nas primeiras foram da ordem de 10 vezes maiores que aquele encontrado em extratos de jabuticaba.

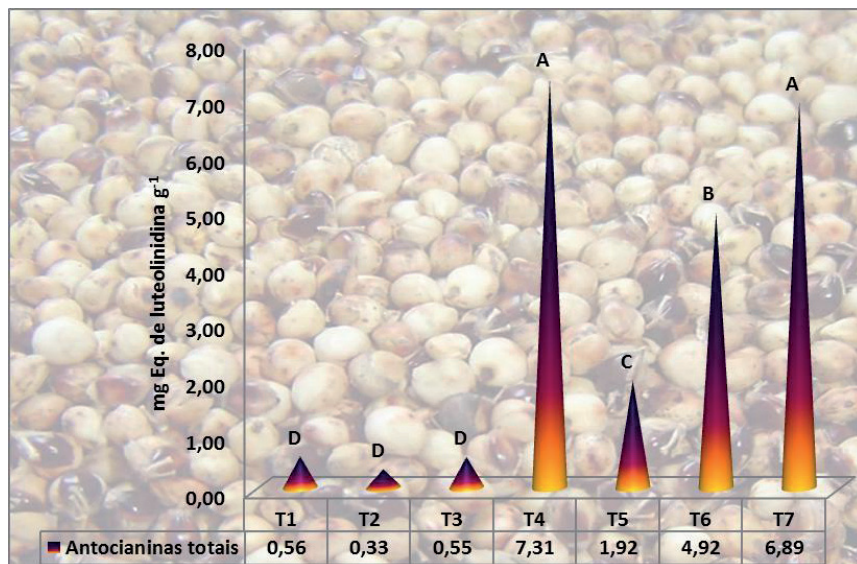


Figura 3. Teores de antocianinas totais (mg Eq. de luteolinidina g^{-1}) extraídas de glumas de sorgo com sete soluções extratoras diferentes: água a 25 °C sem adição de ácido cítrico (T1), com adição de ácido cítrico a 1% (T2), com adição de ácido cítrico a 3% (T3), metanol 1% HCl a 25 °C (T4, controle) e água a 90 °C sem adição de ácido cítrico (T5), com adição de ácido cítrico a 1% (T6), com adição de ácido cítrico a 3% (T7). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Conclusões

Os resultados indicaram influência do pH e da temperatura na extração de antocianinas totais de glumas de sorgo. A extração em água com adição de 3% ácido cítrico a 90 °C pode substituir o método convencional com metanol 1% HCL, largamente utilizado na extração de antocianinas de sorgo.

As glumas de sorgo possuem potencial para extração de antocianinas para uso como pigmentos naturais na indústria de alimentos.

Agradecimentos

À Fapemig e ao CNPq.

Referências

AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. **Phytochemistry**, New York, v. 65, n. 9, p. 1199-1221, 2004.

AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W.; WANISKA, R. D. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, London, v. 90, n. 1/2, p. 293-301, 2004.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours: selected aspects. **Food Chemistry**, London, v. 58, n. 1/2, p.103-109, 1997.

CLIFFORD, M. N. Anthocyanin: nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, n. 7, p. 1063-1072, 2000.

DYKES, L.; SEITZ, L. M.; ROONEY, W. L.; ROONEY, L. W. Flavonoid composition of red sorghum genotypes. **Food Chemistry**, London, v. 116, n. 1, p. 313-317, 2009.

FERREIRA, D. F. **Programa SISVAR**: sistema de análise de variância: versão 4.6 (Build 6.0). Lavras: UFLA, 2003.

FOSSSEN, T.; CABRITA, L.; ANDERSEN, O. M. Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region. **Food Chemistry**, London, v. 63, n. 4, p. 435-440, 1998.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. M.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 3, p. 291-297, 2007.

MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Color stability and structural transformations of cyaniding 3,5-diglucoside and four 3-deoxyanthocyanins in aqueous solutions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 35, p. 422-426, 1987.

MAZZA, G.; MINIATI, E. **Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains**. London: CRC Press, 1993. 362 p.

OLIVEIRA, K. G. de; QUEIROZ, V. A. V.; ALVES, M. P.; NETTO, D. A. M.; SCHAFFERT, R. E.; MENEZES, C. B. de Teores de antocianinas totais em acessos de sorgo do Banco Ativo de

Germoplasma. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 30.; SIMPÓSIO SOBRE LEPTÓPTEROS COMUNS A MILHO, SOJA E ALGODÃO, 1., 2014, Salvador. **Eficiência nas cadeias produtivas e o abastecimento global: resumos expandidos**. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2014.

PALE, E.; KOUHA-BONAFOS, M.; MOUHOSSINE, N.; VANHAELLEN, M.; VANHAELLEN-FASTRE, R.; OTTINGER, R. 7-O-Methylapigeninidin, an antocyanidin from Sorghum Caudatum. **Phytochemistry**, New York, v. 45, p. 1091-1092, 1997.

SEITZ, L. M. **Effect of plant-type (purple vs. tan) and mold invasion on concentrations of 3-deoxyanthocyanidins in sorghum grain**. 2004. AACC Annual Meeting Abstracts. Disponível em: <<http://www.aaccnet.org/meetings/2004/abstracts/a04ma384.htm>>. Acesso em: 13 jul. 2014.

SILVA, G. J. F. da; CONSTANT, P. B. L.; FIGUEIREDO, R. W. de; MOURA, S. M.

Formulação e estabilidade de antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba (*Myrciaria ssp.*). **Alimentação e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 3, p. 429-436, 2010.

VEDANA, M. I. S.; ZIEMER, C.; MIGUEL, O. G.; PORTELLA, A. C.; CANDIDO, L. M. B. Efeito do processamento na atividade antioxidante de uva. **Alimentação e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 2, p. 159-165, 2008.

WU, X.; PRIOR, R. L. Identification and characterization of anthocyanins by high-performance liquid chromatography-

electrospray ionization-tandem mass spectrometry in common foods in the United States: vegetables, nuts, and grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, p. 3101-3113, 2005.

Literatura Recomendada

DICKO, M. H.; GRUPPEN, H.; TRAORE, A. S.; VAN BERKEL, W. J. H.; VORAGEN, A. G. J. Evaluation of the effect of germination on phenolic compounds and antioxidant activities in sorghum varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, p. 2581- 2588, 2005.

DICKO, M. H.; GRUPPEN, H.; TRAORÉ, A. S.; VORAGEN, A. G. J.; BERKEL, W. J. H. Sorghum grain as human food in Africa: relevance of content of starch and amylase activities. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 5, n. 5, p. 384-395, 2006.

